Aus der medizinischen Klinik
der Tierärztlichen Hochschule zu Hannover.
(Prof. Dr. Malkmus.)

Ueber den Nachweis und die Bedeutung des Indikans im Harn des Pferdes.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

Hohen medizinischen Fakultät der Grossherzoglich hessischen Ludwigs-Universität Giessen zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Ernst Bauer aus **Osterode a. Harz**
Tierarzt.

Mit einer Farbtafel.

Druck
von G. Bergmann, Osterode a. H.
1905.

Aus der medizinischen Klinik
der Tierärztlichen Hochschule zu Hannover.
(Prof. Dr. Malkmus.)

Ueber den Nachweis und die Bedeutung des Indikans im Harn des Pferdes.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

Hohen medizinischen Fakultät der Grossherzoglich hessischen Ludwigs-Universität Giessen zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Ernst Bauer aus **Osterode a. Harz**
Tierarzt.

Mit einer Farbtafel.

Druck
von G. Bergmann, Osterode a. H.
1905.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten medizinischen Fakultät zu Giessen.

Referent: Professor Dr. **Geppert.**

Als Massstab für den Grad der Eiweissfäulnis im Körper, besonders im Darmkanal, ist in neuerer Zeit vielfach die Menge des im Harn ausgeschiedenen indoxylschwefelsauren Kaliums, auch Indikan genannt, angesehen worden, welcher aromatische Körper sich stets im normalen Harn der Fleisch- und Pflanzenfresser, bei ersteren in geringerer, bei letzeren in grösserer Menge vorfindet.

Die Muttersubstanz desselben ist nach Jaffé (4) das bei der Spaltung der Eiweisskörper entstehende aromatische Produkt Indol, welches, wie Baumann u. a. (5) nachgewiesen haben, im Körper zu Indoxyl oxydiert und dann im Harn analog den übrigen aromatischen Substanzen mit Schwefelsäure gepaart, als sogenannte Aetherschwefelsäure, ausgeschieden wird.

Die Menge des im Harn vorhandenen Indikans ist in der Regel aus der Menge des Indigoblaus bestimmt worden, welches durch Oxydation des Indoxyls erhalten werden kann.

Eine Methode jedoch, nach der auch der Praktiker auf einfache Weise und mit genügender Genauigkeit den Indikangehalt des sehr indikanreichen Pferdeharns ermitteln kann, ist in der Tierheilkunde noch nicht vorhanden.

Für die Untersuchung des Menschenharns sind in den letzten Jahren Methoden, darunter auch kolorimetrische, veröffentlicht, die zum Teil eine genaue Bestimmung des Indikangehaltes ermöglichen. Diese sind aber für den tierärztlichen Kliniker, der mit den

indikanreichen Harnen der Pflanzenfresser arbeitet, nicht gut verwertbar, da sie teils zur schnellen Orientierung zu umständlich sind, teils aber und besonders die schnell auszuführenden kolorimetrischen Methoden für sehr indikanreichen Harn nicht ohne weiteres passen.

In den Tierkliniken begnügte man sich seither damit, einen Anhaltspunkt über den Grad der vorhandenen Eiweissfäulnis bei einem Patienten durch eine auf folgende Weise vorgenommene Schätzung des Indikangehalts des Harns zu bekommen: Einige Kubikzentimeter filtrierten Harns wurden mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure versetzt und, nachdem noch einige Tropfen einer frischen Chlorkalklösung hinzugefügt waren, im Reagensglas zwecks Extraktion des entstandenen Indigoblaus mit Chloroform ausgeschüttelt, welches sich dann als trübe, blaugefärbte Masse am Boden des Röhrchens absetzt. Um eine klare, blaue Chloroformlösung zu erhalten, wurde in letzter Zeit in der medizinischen Klinik zu Hannover der zu untersuchende Harn vor der Probe mit einem Teil einer 20% Bleizuckerlösung versetzt, wodurch die die Trübung des Chloroforms verursachenden Bestandteile des Harns ausgefällt werden. Je nach der Intensität der Blaufärbung des Chloroformauszugs wurde dann ein vermehrter, normaler oder verminderter Indikangehalt des Harns angenommen.

Bei in Frage kommenden Patienten wurde der Harn stets auf diese Weise untersucht. Und wenn man einerseits in Betracht zieht, dass der Indikangehalt im Pferdeharn zwischen ziemlich weiten Grenzen schwankt, andererseits erwägt, dass man bei zahlreichen Untersuchungen, wie sie in einer Klinik ausgeführt werden, grosse Uebung in der Abschätzung eines Farbentones bekommt, so muss man dieser auf

Schätzung beruhenden Methode einigen Wert zuerkennen. Auf Genauigkeit kann allerdings diese Methode keinen Anspruch erheben.

Da es deshalb für die Tierkliniken sowohl, als auch für den praktischen Tierarzt wünschenswert erschien, eine Methode zu besitzen, nach der in kurzer Zeit mit genügender Genauigkeit der Indikangehalt des Pferdeharns bestimmt werden kann und da ferner über den Indikangehalt des Harns beim gesunden und kranken Pferde nähere Aufklärung nötig erschien, habe ich mich auf den Rat des Herrn Prof. Dr. Malkums hin, dieser Aufgabe unterzogen.

Bevor ich näher auf meine Untersuchungen eingehe, möchte ich der besseren Übersicht wegen die wichtigeren Methoden, die zur quantitativen Bestimmung des Harnindikans bekannt sind, vorausschicken. Eine ziemlich ausführliche Beschreibung derselben habe ich deswegen wählen zu müssen geglaubt, weil sie die Nachteile der Methoden für den tierärztlichen Kliniker klarer vor Augen führt.

Methoden, die zur Bestimmung des Indikangehalts des Harns, speziell des Menschenharns veröffentlicht sind.

Die erste quantitative Methode wurde im Jahre 1870 von Jaffé (6) veröffentlicht. Jaffé stellte zunächst fest, dass die vor ihm gebräuchlichen Methoden zur Bestimmung des Indikangehalts des Harns wertlos sind. Sie beruhten darauf, dass nach Kochen des Harns mit Mineralsäuren Rot-, Violett- oder Blaufärbung auftrat, nach deren Intensität dann der Harn für indikanreich bezw. indikanarm erklärt wurde. Diese Färbungen können nach Jaffé aber ausser vom Indikan auch von anderen Substanzen durch Kochen mit Säuren gewonnen werden.

Jaffé fand dann, dass sich aus indikanhaltigen Lösungen nach Vermischung derselben mit dem gleichen Volumen

konzentrierter Salzsäure und Hinzufügen einiger Tropfen Chlorkalklösung nach einiger Zeit Indigoblau abscheidet. Bei stark indikanhaltigen Lösungen, z. B. beim Pferdeharn scheidet sich aus dem Gemisch der Indigo vollständig in Flocken ab. Bei Lösungen von geringem Indikangehalt dagegen, z. B. beim Menschenharn pflegt sich aus dem Gemisch meistens kein flockiger Indigo abzuspalten, sondern nur eine rötliche oder violette Verfärbung desselben einzutreten.

Von besonderer Wichtigkeit bei der Probe ist die Menge der zugesetzten Chlorkalklösung. Wird zu wenig zugesetzt, dann bleibt die Oxydation unvollständig, wird zu viel hinzufügt, dann geht die Oxydation zu weit und es entsteht aus dem Indigotin Isatin. Für jeden Harn muss deshalb durch besondere Proben ermittelt werden, wie hoch der Chlorkalkzusatz sein muss, damit das Optimum der Indigoabscheidung erreicht werde.

Nach der Abspaltung kann der Indigo auf einem Filter gesammelt, gereinigt und gewogen werden. Die Reinigung geschieht durch Auswaschen mit kaltem, dann mit heissem Wasser und zuletzt mit heissem, verdünnten Ammoniak. Durch Auswaschen mit Alkohol kann auch das Indigorot aus dem Rückstand entfernt und das Indigoblau vollständig rein erhalten werden.

Für die Ausführbarkeit der Wägung des direkt aus dem Harn abgespaltenen und auf dem Filter gesammelten Indigos ist Bedingung, dass der Harn so indikanreich ist, dass er gut wägbare Mengen Indigo liefert, wie z. B. der Pferdeharn. Ist der Harn dagegen indigoarm wie z. B. der Menschenharn, dann muss er erst besonders vorbereitet werden.

Die Bestimmung des Indikangehalts des Pferdeharns wird nach Jaffé folgendermassen ausgeführt: „Man nimmt 200—300 ccm filtrierten Pferdeharn, der nicht zu alt sein darf, da sonst störende Trübungen vorhanden sind, ermittelt die für die vollständige Oxydation notwendige Chlorkalkmenge und fügt sie, nachdem der Harn vorher mit dem gleichen Volumen reiner Salzsäure versetzt ist, zu dem Gemisch tropfenweise unter beständigem Umrühren hinzu. Das Gemisch bleibt dann zur vollständigen Abspaltung des Indigos 12 Stunden stehen. Darauf wird es durch ein vorher mit Salzsäure extrahiertes, bei 105° C. getrocknetes und gewogenes Filter aus sehr dichtem, schwedischen Filtrierpapier filtriert, der Niederschlag allmählig mit kaltem, alsdann mit

heissem Wasser, darauf mit verdünntem, heissen Ammoniak und schliesslich nochmals mit Wasser gewaschen, bei 105° C. getrocknet und gewogen."

Für den Menschenharn gestaltet sich nach Jaffé die Ausführung der Indikanbestimmung weit schwieriger und umständlicher, als für den Pferdeharn, denn er liefert nicht wie der indikanreiche letztere bei direkter Abspaltung und Oxydation wägbare Mengen Indigo und erfordert auch noch deshalb besondere Vorbereitung, weil er durch Auswaschen mit Alkalien nicht entfernbare Harnsäure enthält.

Jaffé hat dann in der von ihm angegebenen Weise den Indikangehalt von Menschen- und Pferdeharnen quantitativ bestimmt.

Er fand beim Menschenharn als Mittel von acht Harnen in 1000 ccm Harn 6,6 mg Indigo,
beim Harn gesunder Pferde als Mittel von fünf Harnen in 1000 ccm Harn 152,0 mg Indigo.

Als niedrigsten Gehalt beim Pferde fand er: in 1000 ccm Harn 75,0 mg Indigo,
als höchsten in 1000 ccm 225,0 mg Indigo.

Nach ihm enthält Pferdeharn im Durchschnitt 23 mal so viel Indigo als Menschenharn.

Jaffé betont selbst, dass seine Methode sehr umständlich und zeitraubend ist, dass sie sehr viel Übung inbezug auf den richtigen Chlorkalkzusatz erfordert und dass bei den vielen Filtrationen, Fällungen u. s. w. Verluste unvermeidlich sind.

Einige Jahre nach der Veröffentlichung von Jaffé's Versuchen hat Salkowski (7) eine kolorimetrische Methode zur quantitativen Indikanbestimmung bekannt gegeben, die bedeutend einfacher auszuführen ist als die Jaffés. Die Bestimmung wird dadurch ermöglicht, dass Salkowski, nachdem er die Abspaltung des Indigos aus dem Harn durch Zusatz von Chlorkalk und Salzsäure vollzogen hat, den gebildeten Indigo in Chloroform oder Äther löst und diese Lösung mit einer Indigo-Chloroformlösung von bekanntem Indigogehalt vergleicht. Die Lösung des Indigoblaus in Chloroform oder Äther wird nach Salkowski nicht durch Ausschüttelung des Harns, der nach Zusatz von Salzsäure und Chlorkalk den Farbstoff enthält, mit einem der Lösungsmittel vollzogen, weil es nach Salkowski nicht gelingt, auf diese Weise alles Indigoblau ins Chloroform zu bekommen, sondern auf fol-

gende Weise ausgeführt: Salkowski versetzt, sobald die Reaktion mit Salzsäure und Chlorkalk als beendigt anzusehen ist, den Harn mit Ätznatron, wodurch ein Niederschlag von Phosphaten entsteht, der alles Indigoblau mechanisch mitreisst und bei der Filtration auf dem Filter zurückhält. Der Niederschlag wird dann ausgewaschen, mit dem Filter getrocknet und zerschnitten und zuletzt mit Chloroform ausgekocht, wobei sich das Indigoblau vollständig, allerdings schwierig in demselben löst.

Eine Normallösung von bekanntem Gehalt hat sich Salkowski folgendermassen dargestellt: Eine kleine Quantität feingepulverten Indigoblaus wird auf ein Filter gebracht, getrocknet und mit dem Filter gewogen. Hierauf wird wiederholt heisses Chloroform auf das Filter gegossen, welches einen kleinen Teil Indigoblau löst und ins Filtrat überführt. Das Filter wird dann wieder getrocknet und gewogen und wiegt jetzt weniger als bei der ersten Wägung. Die Gewichtsdifferenz ist gleich der Menge des in Lösung gegangenen Indigos.

Die richtige Bemessung des Chlorkalkzusatzes hat Salkowski durch ein besonderes Verfahren zu vereinfachen gesucht.

Zum Vergleich der Farbenintensität der Normallösung mit einer Indigo-Chloroformlösung unbekannten Indigogehalts, welche aus einem zur Untersuchung bestimmten Harn gewonnen ist, dienen kleine Glasküvetten, die, nachdem sie mit Lösungen beschickt sind, bei auffallendem Licht gegen eine weisse Unterlage gehalten werden. Die Berechnung geschieht nach Salkowski auf folgende Weise: Eine Küvette wird mit 10 ccm der blaugefärbten Chloroformlösung beschickt, deren Indigogehalt bestimmt werden soll und die in der Regel dünner ist als die Normallösung, die andere mit 10 ccm reinen Chloroforms. Zu dem letzteren wird aus einer feingraduierten Pipette oder Bürette soviel Normallösung hinzugelassen, bis beide gleich sind. Die Berechnung ergibt sich aus dem folgenden Beispiel: 10 ccm Harn liefern z. B. 30 ccm blaugefärbtes Chloroform. 10 ccm reinen Chloroforms bedürfen eines Zusatzes von 2 ccm der Normallösung zur Erreichung der gleichen Farbintensität. Die Normallösung enthält in 200 ccm Chloroform 7,4 mg Indigo, in 2 ccm also 0,074 mg. Da die Färbung beider Lösungen jetzt gleich ist, so enthalten 12 ccm

des Chloroformauszuges 0,074 mg, also 30 ccm Chloroformauszug $\frac{0{,}074 \cdot 30}{12} = 0{,}185$ mg. Die Menge des untersuchten Harns enthält also 0,185 mg Indigo.

Ist der Chloroformauszug stärker gefärbt als die Normallösung, so kann man umgekehrt verfahren, d. h. man kann zum ungefärbten Chloroform solange von dem Chloroformauszug hinzufügen, bis die Normallösung in der Farbintensität erreicht ist.

Erschwert wird nach Salkowski die Vergleichung, wenn die erhaltenen Chloroformauszüge nur sehr schwach gefärbt sind.

Ein ganz anderes Verfahren zur Indikanbestimmung wurde 1886 von Fr. Müller (8) veröffentlicht, welcher den Indigogehalt des Harns auf spektrophotometrischem Wege feststellte.

Nachdem 3 Teile Harn mit 1 Teil einer 15% Bleizuckerlösung gefällt, wurden nach der Filtration 10 ccm des Filtrats mit dem doppelten Volumen reiner konzentrierter Salzsäure versetzt. Die Menge der erforderlichen Chlorkalklösung wurde nach einem dem Salkowski'schen ähnlichen Verfahren ermittelt, nur wurde statt konzentrierter 5—10fach verdünnte Chlorkalklösung benutzt. Der gebildete Indigo wurde dann durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform vollständig extrahiert und letzteres auf eine runde Zahl gebracht.

„Die Bestimmungen des Indigogehaltes dieser Lösungen wurden nach Vierordt und mittelst eines von A. Krüss ausgeführten und mit symmetrischer Bewegung des Doppelspalts versehenen Spektralapparates vorgenommen. Die Messungen wurden ausgeführt im Bereiche der stärksten Absorption zwischen C 52 D — C 95 D. Die Chloroform-Indigolösung wurde in ein Schulz'sches Trögchen eingefüllt und, um sie vor Verdunstung zu schützen, mit Wasser überschichtet. Nach der Formel $\alpha = -\log J$. wurde der Exstinktionskoeffizient als einfachster Ausdruck der Konzentration berechnet.

Um nun daraus den Gehalt des Harns an Indigo in Grammen zu berechnen, musste zuerst das Absorptionsverhältnis für Indigo festgestellt werden durch Ermittelung des Exstinktionskoeffizienten α einer Indigochloroformlösung von bekanntem Gehalt.

0,0086 g ganz reiner, krystallinischer Indigo wurde getrocknet, abgewogen und in 1000,0 ccm Chloroform gelöst.

$$c = 0{,}0000086;\ J = 0{,}3601;\ \alpha = 0{,}44358$$

$$A = \frac{c}{\alpha} = 0{,}00001938.$$

Bei einer zweiten Bestimmungsreihe ergab sich:

$$c = 0{,}0000172;\ J = 0{,}1303;\ \alpha_1 = 0{,}88506$$

$$A = 0{,}00001943.$$

Im Mittel aus diesen Bestimmungen ergab sich:

$$A = 0{,}000019405.$$

Nach der Formel $c = \alpha A$ konnte nun der Gehalt der Chloroformlösung an Indigo und, da die Menge derselben bekannt war, der Gehalt der angewandten Menge Urin an Indigo berechnet werden".

Als Fortschritt in der quantitativen Bestimmung des Indikangehaltes musste es bezeichnet werden, als Obermayer (9) 1890 an Stelle des Chlorkalks das Eisenchlorid als Oxydationsmittel des Indoxyls einführte, das zu 2—4 g in einem Liter rauchender, reiner Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 gelöst ein Gemisch (Obermayers Reagens) gibt, welches zu gleichen Teilen mit dem Harn versetzt die Abspaltung des Indigos vollständig herbeiführt Dieser Umstand ist für quantitative Bestimmungen sehr bedeutsam, da kein Indigo, wie bei der Chlorkalkbenutzung wegen mangelhafter oder zu weit gehender Oxydation des Indoxyls der Untersuchung entgehen kann. Das Reagens Obermayers bietet ausserdem aber noch den Vorteil, dass nicht erst wie früher für jeden Harn die passende Menge des Oxydationsmittels durch Probieren festgestellt zu werden braucht.

Krauss und Adrian (10) veröffentlichten dann eine kolorimetrische Methode, nach der auf folgende Weise der Indikangehalt bestimmt wird: Der Harn wird mit Bleizuckerlösung gefällt, das Filtrat mit Obermayers Reagens zu gleichen Teilen versetzt und das gebildete Indigoblau mit Chloroform vollständig ausgeschüttelt. Der Auszug wird dann mit einer Indigochloroformlösung von bekanntem In-

digogehalt verglichen. (Den Gehalt derselben an Indigo ermittelten Krauss und Adrian durch Verdunsten eines bestimmten Teils der Lösung und Wägen des Rückstandes.) Beim Vergleich der beiden Lösungen wurden zwei mit planparallelen Wandungen versehene Glasgefässe von genau gleicher Dicke benutzt und auf einen Bogen weissen Papiers gestellt. Die Harnindigolösung wurde dann solange verdünnt, bis sie dieselbe Farbennüance wie die Normallösung zeigte. Durch Berechnung konnte dann der Gehalt des Harns an Indigo gefunden werden.

Im Jahre 1898 wurden dann von Wang (11) und Obermayer (12) quantitative Methoden bekannt gegeben, die bis auf einen prinzipiellen Unterschied sich vollständig gleichen.

Nach Wang wird die Bestimmung folgendermassen ausgeführt: Der Harn wird mit Bleizuckerlösung gefällt, das Filtrat mit den gleichen Volumen Obermayers Reagens versetzt und nachdem sich das Indigoblau abgeschieden, solange mit Chloroform ausgeschüttelt, bis aller Indigo in demselben gelöst ist. Der Chloroformauszug wird dann verdunstet, der Rückstand in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, die Lösung mit Wasser verdünnt und nachdem sie erwärmt ist mit Kaliumpermanganatlösung titriert.

Die Kaliumpermanganatlösung wird in starker Verdünnung (5 ccm Stammlösung von etwa 3 gr im Liter auf 200 ccm verdünnt) angewandt. Durch Umrechnung des Wertes aus einer Titration mit Normaloxalsäure wird dann der Indigowert ermittelt.

Obermayer versetzt den Harn mit bestimmter Menge Bleizuckerlösung, filtriert und nimmt vom Filtrat entweder 10—20 ccm oder, wenn der Harn indikanarm ist, 50 ccm zur Bestimmung. Im Schüttelkolben werden diese dann mit dem gleichen Volumen Obermayers Reagens gemischt und mit 25 ccm Chloroform so oft ausgeschüttelt, als sich das Chloroform blau färbt. Die Auszüge werden zum Trocknen verdunstet, der Rückstand wird auf dem Wasserbade 7 bis 10 Minuten lang mit 50 ccm 45% Alkohols erwärmt. (Unterschied von Wang). Dabei gehen rötliche Anteile in Lösung, während der reine Indigo an der Schalenwand haften bleibt.

Nach Verjagung des Alkohols wird der Indigo mit konzentrierter Schwefelsäure übergossen, bis die entstandene Lösung veilchenblau wird. Die Lösung wird dann mit der doppelten Menge Wasser verdünnt, auf 50—80° erwärmt und

mit Kaliumpermanganatlösung titriert, bis sie, nachdem sie grün geworden, eben anfängt bräunlich zu werden.

Nach neueren Untersuchungen von Wang (13) genügt das Auswaschen des indigohaltigen Chloroformrückstandes mit 45% Alkohol vor dem Titrieren auch noch nicht, um erstens die anderen Farbstoffe zu entfernen, die neben Indigo ins Chloroform übergehen, zweitens an Stelle der stark getrübten eine klare, blaue Lösung zu erhalten. Man soll vielmehr eine Mischung von gleichen Teilen Äther, Alkohol 95% und Wasser anwenden.

Durch das Auswaschen des Rückstandes werden natürlich niedrigere Werte erhalten, als bei den ursprünglich Wangschen Verfahren. Bouma (14) glaubt, dass die Farbstoffe, welche ausser Indigoblau im Rückstande sind, nicht entfernt werden dürfen, weil auch sie neben Indigoblau aus der Zersetzung der Indoxylschwefelsäure hervorgehen. Er erhielt durch Behandlung des Verdampfungsrückstandes mit Äther Indigorot in Lösung. Alkohol löste Indigobraun und es hinterblieb Indigoblau, mit reiner blauer Farbe in Chloroform löslich.

Zur Klärung dieser Fragen und um die Methoden Wang und Obermayer auf gesicherte Grundlagen zu stellen, hat neuerdings Ellinger (15) die Ergebnisse seiner Arbeiten über Indikan veröffentlicht. Danach muss die Indikanbestimmung wie folgt ausgeführt werden, wenn sie allen Anforderungen inbezug auf Genauigkeit genügen soll: „Der sauer reagierende oder mit Essigsäure schwach angesäuerte Harn wird mit $^1/_{10}$ Volumen Liquor plumbi subacetici gefällt, falls das spezifische Gewicht sehr hoch ist — etwa über 1040 — wird der Harn vorher auf die Hälfte verdünnt. Je nach dem Gehalt an Indikan, über welchen man sich durch eine qualitative Vorprobe ein Urteil zu bilden sucht, variierend, wird ein abgemessenes Volumen des Filtrats vom Bleiniederschlag mit dem gleichen Volumen Obermayers Reagens im Schütteltrichter versetzt und sofort mit Chloroform mehrmals ausgeschüttelt, bis eine neue Portion Chloroform sich nicht mehr färbt. Das Volumen des Filtrats soll so gewählt werden, dass 3—4 Ausschüttelungen mit 30 ccm Chloroform und jedesmal ein etwa 2 Minuten langes Schütteln genügen. Das Reagens muss durch Auflösen von festem Eisenchlorid in reiner konzentrierter Salzsäure vom spezif. Gewicht 1,19 hergestellt werden. Bei Anwendung roher Salzsäure erhält man zu hohe Indigowerte. 2 gr Eisenchlorid im Liter

genügen. Lösungen von 1 gr oder 4 gr im Liter ändern nichts am Resultate.

Die abgelassenen Chloroformlösungen bleiben einige Minuten im Kölbchen stehen und werden durch ein trockenes Filter in einen trockenen sorgfältig gereinigten Kolben filtriert. Das Chloroform wird auf dem Wasserbade abdestilliert, der Rückstand auf dem Wasserbade im liegenden offenen Kolben noch etwa 5 Minuten lang getrocknet.

Der trockene Rückstand wird mit heissem Wasser zwei- bis dreimal ausgewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr gefärbt erscheint. Eine Loslösung von Indigopartikelchen vom Glase wurde dabei nur sehr selten beobachtet. Wenn dieser Fall eintritt, muss das Waschwasser durch ein kleines Filter filtriert und der Filterrückstand nach dem Trocknen mit Chloroform extrahiert werden. Der Rückstand einer solchen zweiten Chloroformlösung wird dann ohne nochmaliges Auswaschen in konzentrierter Schwefelsäure gelöst und mit der Hauptmenge vereinigt.

Der mit heissem Wasser ausgewaschene Indigo wird nach Abgiessen des Wassers mit etwa 10 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure, die Kaliumpermanganatlösung nicht entfärben darf, aufgenommen und zur vollständigen Lösung 5—10 Minuten auf dem kochenden Wasserbade erwärmt. Die Schwefelsäurelösung wird in einen sorgfältig gereinigten Erlenmeyer Kolben gegossen, in welchem sich etwa 100 ccm destilliertes Wasser befinden und mit destilliertem Wasser in den Kolben nachgespült. Die blaue Lösung war stets vollständig klar, geringe Trübung erschwert das Erkennen des Endpunktes der Titration, macht die Bestimmung aber nicht unmöglich.

Zur heissen Lösung wird Kaliumpermanganatlösung in der von Wang angegebenen Verdünnung so lange zugegeben, bis der rötliche Ton in reines Gelb umgeschlagen ist. Der Titre der Chamäleonlösung muss mit reinem Indigoblau gestellt werden. Die Umrechnung des Wertes aus einer Titration mit Normaloxalsäure genügt nicht.“

Vor der Ellingers erschienen noch zwei Methoden zur quantitativen Bestimmung des Harnindikans, im Jahre 1901 eine von Bouma (16), 1902 eine von Strauss (17).

Bouma fand als Nachteil der bisher bekannten Methoden, dass bei der Oxydation des Indoxyls mit Obermayers Reagens ein Teil desselben in Indigoblau, ein anderer in Indigorot und ein dritter in Indigobraun übergeführt wird.

Er suchte dann nach einem Mittel alles Indoxyl in eine einzige Form von Indigo überzuführen und fand, dass beim Kochen frischen Harns mit Salzsäure und Isatin alles Indoxyl in Indigorot umgewandelt wird. Hierauf baute Bouma sowohl eine genaue titrimetrische, als auch eine für klinische Zwecke geeignete kolorimetrische Methode auf. Bei der letzteren wird der Gehalt der aus dem Harn erhaltenen Indigorotchloroformlösung an Indigorot durch Vergleich mit Indigorotchloroformlösungen von bekanntem Indigorotgehalt ermittelt. Diese Normalindigorotchloroformlösungen besitzen einen Gehalt an Indigo, der der Reihe nach einem Gehalt des Harns von 5, 10, 15, 20, 30, 40 mg im Liter entspricht. Sie sind in Röhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wandstärke eingeschmolzen. Die Harnindigorotchloroformauszüge müssen beim Vergleich in ebensolche Röhrchen gebracht werden.

Bouma erwähnt noch, dass bei sehr starker Indikanurie Verdünnung des Filtrats mit Wasser zu empfehlen ist, um zu verhüten, dass sich krystallinisches Indigorot absetzt, das nicht leicht in das Chloroform übergeht und betont, dass das Isatinsalzsäurereagens jeden Monat frisch bereitet werden muss, dass Harne, die nicht frisch sind oder alkalisch reagieren unter Umständen doch neben Indigorot etwas Blau liefern können und dass zum Erhalten der richtigen Farbe die Standardröhrchen im Dunkeln aufzubewahren sind.

Strauss hat folgende, ebenfalls auf einfache Weise auszuführende Methode veröffentlicht: Man fällt den Harn mit Bleizuckerlösung, fügt zu dem Filtrat die gleiche Menge Obermayers Reagens und schüttelt das Gemisch so lange mit Chloroform aus, bis der Auszug farblos ist. Die Auszüge werden vereinigt und mit Chloroform so lange verdünnt, bis sie die Farbe einer Indigochloroformlösung von bekanntem Indigogehalt erreicht haben. Letztere Lösung ist in ein dünnes Glasröhrchen (Teströhrchen) eingeschmolzen, um sie vor Verdunstung zu schützen. Die Verdünnung des Harnindigochloroformauszuges wird in einem der Weite des Teströhrchens entsprechenden Reagensglas vorgenommen. Beim Vergleich wird hinter beide Röhrchen ein weisses Blatt Papier gehalten. Aus den gebrauchten Chloroformmengen kann dann der Gehalt des Harns an Indigo berechnet werden.

Welche Nachteile für den Kliniker schliessen die vorstehenden Methoden bei der Untersuchung des Pferdeharns in sich?

Es ist nicht zu bestreiten, dass eine Anzahl der für die Untersuchung des Menschenharns veröffentlichten Methoden, auch bei der Indikanbestimmung des Pferdeharns Verwendung finden kann. Ebensogut und ohne grössere Schwierigkeiten wie beim Menschenharn kann die Indikanbestimmung beim Pferdeharn ausgeführt werden nach der spektrophotometrischen Methode Fr. Müllers, nach der von Ellinger modifizierten Methode Wangs und Obermayers und nach der titrimetrischen Boumas, wenn der Pferdeharn bei der letzeren wegen seines hohen Indikangehalts vor der Untersuchung mit Wasser genügend verdünnt wird.

Alle drei Methoden liefern genaue Resultate und sind deshalb für bestimmte Untersuchungszwecke, bei denen es auf die Ermittelung eines richtigen und genauen Wertes ankommt, nicht von der Hand zu weisen, sowohl beim Menschen-, als auch beim Pferdeharn.

Für den Praktiker jedoch sind sie in der Ausführung zu kompliziert und bieten bei der täglichen Verwendung zu Harnuntersuchungen ziemlich grosse Schwierigkeiten für denselben.

Bei der Müller'schen Methode stehen auch in der Regel dem Untersucher nicht die Apparate zur Verfügung, deren er bedarf und deren besondere Anschaffung sich nur bei umfangreichem Untersuchungsmaterial lohnt. Bei der Ellingers und Boumas ist, abgesehen von den mannigfaltigen Manipulationen, die sie erforderlich machen, bevor man die zur

Titration verwendbare Indigosulfonsäurelösung hergestellt hat, gewisse Übung notwendig, um den Endpunkt der Titration zu erkennen. Andererseits macht die beschränkte Haltbarkeit der zur Titration benutzten Kaliumpermanganatlösung viel Arbeit dadurch, dass die Lösung, wenn sie zersetzt ist, durch eine neue ergänzt werden muss, deren Titre erst wieder mit Hilfe einer Indigosulfonsäurelösung von bekanntem Indigogehalt zu bestimmen ist. Ausserdem müssen die verwandten Chemikalien z. B. Chloroform und Schwefelsäure stets vorher auf ihre Reinheit geprüft werden, da sie unter Umständen das Ergebnis stark modifizieren können.

Dem Praktiker kommt es gar nicht so sehr auf die absolute Genauigkeit des Ergebnisses an. Für seine Zwecke reichen Annäherungswerte vollständig aus, verlangen muss er aber von einer Methode möglichste Einfachheit und Schnelligkeit in der Ausführung.

Leider besitzen gerade diejenigen für den Menschenharn gebräuchlichen Methoden, die jene Forderungen in gewisser Hinsicht erfüllen, für den Pferdeharn besondere Nachteile hauptsächlich wegen des sehr hohen Indikangehalts des letzteren.

Schon die ursprüngliche Methode Jaffés ist für den Pferdeharn, wenn man statt Chlorkalk Obermayers Reagens nimmt, nicht sehr umständlich. Sie kommt aber für den Praktiker deswegen wenig in Betracht, weil sie das Vorhandensein genauer chemischer Wagen, die dem Tierarzt in der Regel nicht zu Gebote stehen, zur Voraussetzung macht und weil bei der direkten Filtration des gebildeten Indigoblaus ziemliche Mengen ins Filtrat übergehen können, andere Substanzen aber auf dem Filter zurückbleiben, die durch Auswaschen nicht entfernbar sind.

Am einfachsten in der Ausführung und deshalb für den Praktiker zur Bestimmung am besten geeignet sind die kolorimetrischen Methoden. Die beschriebenen besitzen aber fast durchweg so erhebliche Mängel, dass sich ihre Anwendung besonders zur Untersuchung des Pferdeharns nicht lohnt.

Die Methode von Salkowski kann durch Verwendung von Obermayers Reagens noch einfacher, als ursprünglich gestaltet werden. Allein für den Pferdeharn wird sie deshalb nicht brauchbar sein, weil der nach Entstehung des Indigoblaus durch Zusatz von Ätznatron sich bildende Niederschlag von Phosphaten verhältnismässig geringer ist als beim Menschenharn, die gebildete Indigomenge jedoch grösser als bei demselben. Der Phosphatniederschlag, der alles Indigoblau mechanisch mitreissen und auf dem Filter zurückhalten soll, vermag dies beim Pferdeharn nicht. Das Indigoblau, das mit dem Niederschlag auf dem Filter zurückgehalten wird, lässt sich ausserdem nach dem Trocknen schwierig in Chloroform lösen. Das Filter mit Niederschlag und Indigoblau muss, damit sich das Indigoblau vollständig im Chloroform löst, zerschnitten und mehrfach mit Chloroform ausgekocht werden. Auch die Herstellung der zum Vergleich notwendigen Normallösung ist zeitraubend. Dieser Umstand wäre aber nicht so bedeutsam, wenn die Lösung für längere Zeit zu Vergleichszwecken benutzt werden könnte. Leider aber verfärbt sich die Lösung selbst bei Aufbewahrung im Dunkeln ziemlich schnell und muss deshalb häufig frisch bereitet werden.

Diese unangenehme Eigenschaft der Vergleichslösung ist ebenfalls bei den kolorimetrischen Methoden von Adrian und Kraus, Bouma und Strauss zu beklagen. Der Inhalt eines Teströhrchens, wie es Strauss verwendet, der ursprünglich deutlich blau

gefärbt war, zeigte, nachdem das Röhrchen mehrere Tage dem Lichte ausgesetzt war, fast gar keine Blaufärbung mehr. Auch bei anderen Indigochloroformlösungen, die im Dunkeln aufbewahrt wurden, machte ich die Beobachtung, dass, sie sich aufhellten und zwar trat die Aufhellung um so schneller und deutlicher hervor, je konzentrierter die Lösungen waren.

Bei allen diesen Methoden ist ausserdem noch zu beachten, dass wenn man bei einer Pferdeharn-Untersuchung den aus dem Harn erhaltenen Indigoblauchloroformauszug auf die Farbe der verhältnismässig schwach gefärbten Vergleichslösung bringen will, entweder zur Verdünnung sehr viel Chloroform gebrauchen oder aber von Anfang an sehr wenig Harn zur Probe verwenden muss, wodurch natürlich die Fehler am Resultat sich um so stärker bemerkbar machen.

Ausarbeitung einer für klinische Zwecke geeigneten Methode zur Untersuchung des Pferdeharns auf Indikan.

Einige der zur Indikanbestimmung beim Menschenharn benutzten Methoden sind also für den Pferdeharn ohne weiteres verwendbar. Sie sind aber für die klinische Bestimmung zu kompliziert und umständlich. Die meisten anderen, besonders die kolorimetrischen sind für klinische Zwecke einfach genug, aber wegen des stets sehr geringen Indikangehalts der Vergleichslösungen — solche mit hohem Gehalt lassen sich schwer herstellen und halten sich garnicht — und wegen der leichten Zersetzlichkeit derselben für den Pferdeharn nur mit grossen Nachteilen verwendbar.

Diese letzteren nun gaben Veranlassung zu dem Versuche, eine für die klinische Untersuchung des Pferdeharns auf Indikan geeignete Methode ausfindig zu machen.

Der leitende Gedanke war dabei, dem Kliniker die Möglichkeit zu geben, ohne grosse Schwierigkeit und in kurzer Zeit den Indikangehalt des Harns zu ermitteln. Er sollte der Mühe enthoben werden, erstens nach Versetzung des Harns mit Obermayers Reagens zwecks Extraktion des gebildeten Indigos viele Chloroformausschüttelungen machen zu müssen und zweitens den erhaltenen Chloroformauszug bis auf die Stärke einer Vergleichslösung verdünnen zu müssen. Ausserdem sollte der Mangel umgangen werden, der auf der Zersetzlichkeit der zum Vergleich notwendigen Normallösung beruht.

Will man nämlich nach Entstehung des Indigoblaus im Harn dasselbe vollständig mit Chloroform extrahieren, so sind schon bei einer kleinen Menge Pferdeharns eine Reihe von Wiederholungen der Ausschüttelung mit ziemlich viel Chloroform notwendig. Hierdurch gestaltet sich wegen des Preises des Chloroforms eine einzige Bestimmung beim Pferdeharn schon ziemlich teuer und auch wegen der Zahl der Ausschüttelungen etwas umständlich. Ich entschloss mich daher, den Harn nur einmalig mit einer bestimmten Chloroformmenge auszuschütteln, wobei allerdings nur ein Teil des gebildeten Indigoblaus in Lösung geht, die Bestimmung aber wesentlich verbilligt und vereinfacht wird.

Der Gehalt an Indigo des mittels einer einmaligen Ausschüttelung erhaltenen Chloroformauszugs sollte ohne vorherige Verdünnung durch einfachen Vergleich gefunden und daraus auch gleichzeitig der Gehalt des Harns an Indigo ermittelt werden können. Zum Vergleich sollten aber nicht

leicht zersetzliche Lösungen von bekanntem Indigogehalt herangezogen, sondern eine haltbare Farbskala auf Papier hergestellt werden, welche mit Hilfe eines geeigneten Glasgefässes gestattet, die Intensität der Blaufärbung einer Lösung zu bestimmen.

Die Möglichkeit der Herstellung einer solchen Skala war begründet in dem grossen Indikangehalt des Pferdeharns selbst, der einerseits erlaubte, zur Ausschüttelung des Indigoblaus aus dem Harne eine genügend grosse Chloroformmenge zu verwenden, andrerseits keine Schwierigkeit bot, den Stärkeunterschied der einzelnen Farben der Skala deutlich hervortreten zu lassen. Bei indikanarmen Harnen, z. B. Menschenharn, würden diese beiden Punkte die Anfertigung einer ebensolchen, für sie passenden Tabelle in Frage stellen.

Um unter diesen Gesichtspunkten eine passende Farbskala herstellen zu können, musste ich erstens den Indikangehalt des normalen Pferdeharns, über den nur Jaffé einige Zahlen mitgeteilt hat, genau kennen, zweitens die am besten zum Vergleich geeigneten Farbstärken festlegen bezw. erproben, wieviel Chloroform bei einmaliger Ausschüttelung einer bestimmten Harnmenge für die Erkennung der Blaufärbung vorteilhaft ist, drittens ermitteln, wieviel Prozent des gebildeten Indigoblaus unter gleichen Verhältnissen bei einmaliger Ausschüttelung des Harns mit Chloroform in letzteres übergehen.

Zwecks Erlangung einer Durchschnittszahl für den Indikangehalt des normalen Pferdeharns habe ich Harne 12 verschiedener, gesunder Pferde zu beliebigen Tageszeiten aufgefangen und in der von Ellinger angegebenen Weise titrimetrisch untersucht. Zur Titration habe ich eine Kaliumpermanganatlösung verwendet, welche im 1000 ccm Flüssigkeit ungefähr 0,35 gr Kalium permanganicum enthielt.

Der Titre derselben ist vor dem Gebrauch jedesmal empirisch mit einer wässerigen Lösung von Indigosulfonsäure von bekanntem Indigogehalt festgestellt worden. Die Indigosulfonsäure ist durch Auflösen von genau gewogener Menge chemisch reinen Indigotins in Schwefelsäure, die für sich titriert, Kaliumpermanganatlösung nicht entfärbte, bereitet worden und nachher derart mit destilliertem Wasser verdünnt, dass in 10 ccm Lösung derselben 1 mg Indigotin enthalten war. Das Indigotin habe ich teils selbst synthetisch dargestellt aus Orthonitrophenylpropiolsäure — zu einer Lösung derselben in verdünnter Natronlauge wird, nachdem sie bis zum Kochen erhitzt ist, ein wenig Traubenzucker hinzugefügt, wodurch alsbald eine Blaufärbung des Gemisches und allmählich eine reichliche Abscheidung von kleinen aus Indigoblau bestehenden Nadeln stattfindet, die nach dem Erkalten abfiltriert, gewaschen und getrocknet werden können — teils von de Haën bezogen. Beide Indigotinarten stimmten bei der Titration überein in dem Verbrauch von Kaliumpermanganatlösung. Titriert habe ich stets solange, bis die Farbe der Indigosulfonsäurelösung, nachdem sie grün geworden, eben in reines Gelb umschlug.

Da es beim Pferde im Gegensatz zum Menschen fast unmöglich ist festzustellen, wie gross die abgesetzte Tagesmenge Harn ist, so habe ich die Indikanbestimmung stets für 1 Liter Harn gemacht und dabei das spezifische Gewicht, das beim Pferde zwischen sehr weiten Grenzen schwankt, mit berücksichtigt. Ich habe der Untersuchung immer 10 ccm Harn zu Grunde gelegt und die Bestimmung so ausgeführt, dass ich 20 ccm Harn mit 2 ccm einer 20prozentigen Bleizuckerlösung gefällt, durch ein trocknes Filter filtriert habe und vom Filtrat 11 ccm, in dem 10 ccm Harn enthalten sind, zur weiteren

Untersuchung benutzte. Ich brauchte dann das Resultat nur mit 100 zu multiplizieren, um den Gehalt eines Liters Harn an Indigo zu finden.

Ich fand bei den 12 Harnen einen mittleren Indikangehalt von 184 mg im Liter bei einem mittleren spezifischen Gewicht von 1034. Im einzelnen erhielt ich folgende Werte:

Harn I	1040	spez.	Gew.	enth.	240	mg	Indigo	im	Liter
„ II	1043	„	„	„	195	„	„	„	„
„ III	1028	„	„	„	180	„	„	„	„
„ IV	1005	„	„	„	45	„	„	„	„
„ V	1043	„	„	„	260	„	„	„	„
„ VI	1044	„	„	„	150	„	„	„	„
„ VII	1052	„	„	„	310	„	„	„	„
„ VIII	1037	„	„	„	165	„	„	„	„
„ IX	1031	„	„	„	205	„	„	„	„
„ X	1024	„	„	„	150	„	„	„	„
„ XI	1041	„	„	„	175	„	„	„	„
„ XII	1017	„	„	„	130	„	„	„	„

Bei diesen Bestimmungen ist natürlich, nachdem von jedem Harn 11 ccm des Filtrats vom Bleiniederschlag mit dem gleichen Volumen Obermayers Reagens versetzt waren, das Gemisch so lange mit Chloroform ausgeschüttelt worden, bis das letztere farblos blieb.

Um nun zu ermitteln, wie gross die Chloroformmenge für 10 ccm Harn bei einmaliger Ausschüttelung zweckmässig zu wählen ist, damit möglichst viel Indigoblau gelöst wird und die eintretende Blaufärbung doch ohne weiteres gut zum Vergleich mit einer Farbtabelle geeignet ist, habe ich bei den verschieden indikanhaltigen Harnen zu 10 ccm Harn einmal 20 ccm Chloroform, einmal 10 ccm und ein anderes Mal 40 ccm Chloroform zur einmaligen Ausschüttelung genommen. Bei Verwendung von 20 ccm Chloroform zeigte sich bei dem indikanärmsten Harne noch eine sehr deutliche blaue Färbung,

während bei den indikanreicheren Harnen die Färbung noch hell genug war, um gut zum Vergleich mit einer Farbtafel geeignet zu sein. Dagegen waren die Auszüge aus verschiedenen Harnen bei Ausschüttelung mit nur 10 ccm Chloroform schon so dunkel, dass sie nicht gut von einander unterschieden werden konnten. Bei Ausschüttelung mit 40 ccm war die Färbung verschiedener Auszüge zu hell. Ich entschloss mich daher immer 20 ccm Chloroform zur einmaligen Auschüttelung zu verwenden und die Farbskala so einzurichten, dass bei Benutzung eines bestimmten Glasgefässes zum Vergleich die Farben der Skala der Reihe nach an Stärke mit Lösungen übereinstimmen, die 50, 100, 200, 300, 400 und 500 mg Indigo im Liter anzeigen.

Zunächst musste jedoch erst noch ermittelt werden, in wieweit das in den 11 ccm Filtrat vorhandene Indigo mittels dieser einmaligen Ausschüttelung mit 20 ccm Chloroform extrahiert werden kann. Ich ermittelte dieses dadurch, dass ich von ein und demselben Harne immer zwei titrimetrische Bestimmungen machte. Bei der ersten schüttelte ich das Indigoblau vollständig mit Chloroform aus und bestimmte den Gehalt. Bei der zweiten Untersuchung machte ich nur eine einmalige Ausschüttelung mit 20 ccm Chloroform und bestimmte ebenfalls den Gehalt. Natürlich erhielt ich für den Liter Harn berechnet einen niedrigeren Indigowert, als das erste Mal. Der Unterschied des Resultates der beiden Untersuchungen zeigte auf diese Weise an, wieviel Prozent des Indigoblaus mit einmaliger Ausschüttelung mit 20 ccm Chloroform extrahiert werden können. Es stellte sich bei diesen Untersuchungen heraus, dass der Prozentsatz des Indigoblaus, der mit einmaliger Ausschüttelung extrahiert werden kann, für Harne von verschieden grossem Indikangehalt unter gleichen

Bedingungen nicht derselbe ist Bei indikanreichen Harnen löste sich bei einmaliger Ausschüttelung prozentualiter weit weniger Indigoblau im Chloroform, als dies bei den indikanärmeren der Fall war.

Bei den vergleichenden Untersuchungen habe ich stets besonders darauf geachtet, dass die einmalige Ausschüttelung immer mit der gleichen Intensität, gleich lange Zeit hindurch und möglichst in einem gleichen Gefäss vorgenommen wurde. Ich habe stets ca. $^1/_4$ Minute lang kräftig geschüttelt und ein cylindrisches Röhrchen von ca. 4 cm Durchmesser benutzt, welches mit einem Gummistöpsel verschlossen wurde.

Ich fand bei der Untersuchung eines Harnes, welcher nach der titrimetrischen Bestimmung bei vollständiger Extraktion des Indigoblaus 475 mg Indigoblau im Liter enthielt, bei einmaliger Ausschüttelung mit 20 ccm Chloroform nur 345 mg, also nur 72,5%. Diesen Harn habe ich dann mit destilliertem Wasser in steigendem Grade verdünnt und von jedem Verdünnungsgrad wiederum zwei titrimetrische Bestimmungen gemacht, eine bei vollständiger Extraktion des Indigos mit Chloroform, eine bei einmaliger Extraktion mit 20 ccm Chloroform. Dabei erhielt ich für die Harne folgende Werte:

I. Bei vollständiger Extraktion,	II. bei einmal. mit 20 ccm Chlorof.	Proz.
420 mg im Liter	310 mg im Liter	= 73,8%
290 „ „ „	225 „ „ „	= 77,6%
205 „ „ „	170 „ „ „	= 82,9%
100 „ „ „	85 „ „ „	= 85,0%
45 „ „ „	40 „ „ „	= 88,8%

Auch bei den verschiedensten anderen Harnen, die auf dieselbe Weise untersucht wurden, zeigte sich die Ausbeute an Indigo bei einmaliger Ausschüttelung mit 20 ccm Chloroform ganz den obigen Resultaten entsprechend.

Wenn ich nun den kleinen Fehler machen und annehmen darf, dass bei einem Gehalt von 500 mg Indigo die Ausbeute prozentualiter dieselbe ist wie bei 475 mg, bei 400 dieselbe wie bei 420 u. s. w., so erhalte ich, wenn ich mittels Gleichung aus obigen Resultaten die Ausbeute für 500, 400, 300, 200, 100 und 50 mg berechne, folgende Zahlen:

Es entsprächen den bei vollständ. Extraktion erhaltenen		bei einmaliger Extraktion mit 20 ccm Chloroform nur:
500 mg	=	363 mg
400 „	=	295 „
300 „	=	233 „
200 „	=	166 „
100 „	=	85 „
50 „	=	44 „

Da nun bei der einmaligen Ausschüttelung die 20 ccm Chloroform stets das Indigoblau von 10 ccm Harn enthalten, so entspricht eine solche Lösung, die 3,63 mg Indigoblau zeigt, einem Harn, der einen Gehalt von 500 mg Indigo hat. Ich habe mir jetzt 20 ccm Chloroform hergestellt, die 3,6 mg Harnindigoblau enthielten und diese blaue Lösung teilweise in ein Glaskästchen (Absorptionskistchen) von 30×20×4 mm innerer Weite gegossen, das Gefäss dicht an weisses Papier gehalten und die sich hier ergebende blaue Farbe auf dem Papier fixiert. Sie wurde mit 500 bezeichnet, da sie, wie ausgeführt, bei der Untersuchung eines Harns in der angegebenen Weise einen Gehalt desselben von 500 mg Indigo anzeigt. Durch Berechnung nach der Gleichung $363 : 20 - 295 : x$, in der x den Bruchteil der 20 ccm angibt, der wieder auf 20 ccm verdünnt werden muss, um eine Lösung zu ergeben, die einen Gehalt des Harns von 400 mg im Liter anzeigt u. s. w., wurden dann die weiteren fünf Farbstärken gefunden und danach die Skala gezeichnet. (Siehe Anlage.)

Eine grosse Schwierigkeit bei der Herstellung derselben, die mit grosser Sorgfalt von meinen Freunden cand. ing. Schmidt und cand. ing. Möhle aquarelliert wurde, lag darin, dass besonders die am meisten Indigoblau enthaltenden Lösungen sich schon nach mehreren Stunden heller färbten durch Auskrystallisieren des Farbstoffs, der ursprünglich in leichter löslicher, amorpher Form aus dem Harn ausgeschüttelt wird. Es mussten aus diesem Grunde bei der Zeichnung der Tabelle häufig frische Chloroformauszüge bekannten Indigogehaltes angefertigt werden, da die Abtönung der Farben ziemlich viel Zeit in Anspruch nahm.

Ausführung der Indikanbestimmung nach der Skala.

Die Indikanbestimmung mit Hilfe der Skala gestaltet sich nun einfach folgendermassen:

Man nimmt 20 ccm des zu untersuchenden sauren bezw. mit Essigsäure sauer gemachten Harns, fällt mit 2 ccm oder wenn dies nicht ausreicht mit 4 ccm, einer 20% Bleizuckerlösung, filtriert durch ein trockenes Filter und versetzt 11 bezw. 12 ccm des Filtrats, welche 10 ccm Harn enthalten, mit dem gleichen Volumen Obermayers Reagens. Dann wartet man einige Minuten, bis eine bei einigermassen indikanhaltigen Harnen stets auftretende Dunkelfärbung sich einstellt und schüttelt darauf das Gemisch mit 20 ccm Chloroform eine Viertelminute lang kräftig aus. Nach kurzer Zeit, wenn sich das Chloroform als klare blaue Lösung am Boden des zum Schütteln benutzten Gefässes abgesetzt hat, giesst man einen Teil des Chloroforms in ein Absorptionskistchen von 4 mm lichter Tiefe und hält das Gefäss flach auf die unter den einzelnen Farben der Tabelle befindlichen abgegrenzten Räume,

dass es das Papier berührt, so ermittelnd, zu welcher Farbe die Lösung passt. Passt sie zu Tafel I, dann enthält der untersuchte Harn 50 mg Indigoblau im Liter, zu II, dann enthält er 100, zu III 200 usw. Ist sie noch dunkler als Farbe VI, so muss der Harn vor der Probe mit dem gleichen Volumen oder, wenn das noch nicht genügt, mit dem doppelten destillierten Wassers verdünnt und das Resultat nachher mit 2 bezw. 3 multipliziert werden. Eine Verdünnung der einmal erhaltenen Chloroformfarblösung mit Chloroform und nachherige Multiplikation ergibt zu niedrige Werte, weil bei den noch mehr als 500 mg Indigo im Liter enthaltenden Harnen die Ausbeute bei einer einmaligen Ausschüttelung prozentualiter weit kleiner ist, als bei indikanärmeren Harnen. Es muss deshalb der Harn gleich mit Wasser verdünnt werden.

Der Vergleich der blauen Lösung mit den Farben der Tafel kann nach dem Ermessen des Einzelnen sowohl bei auffallendem, als auch bei durchfallendem Licht ausgeführt werden. Es ist auch nicht notwendig, den Auzgangspunkt von 10 ccm Harn zu nehmen. Man kann jede beliebige Menge verwenden. Es kommt nur darauf an, dass bei der Ausschüttelung das Verhältnis 1 Harn zu 2 Chloroform gewahrt bleibt und dass der Vergleich mit einer 4 mm dicken Schicht Indigochloroformlösung vorgenommen wird.

Aufmerksam möchte ich noch darauf machen, dass die in der angegebenen Weise gewonnenen Chloroformauszüge der Harne die 500 mg und mehr Indigo im Liter haben, sich wegen der begrenzten Löslichkeit des Indigoblaus im Chloroform nur wenig von einander unterscheiden. Die Farbenunterschiede treten bei den dunkeln Färbungen auch nicht so deutlich hervor, als bei den hellen. Man kann deshalb unter Umständen Auszüge von Harnen, die 600 mg Indigo im Liter und mehr enthalten, beim

Vergleich als zu Tafel VI passend ansehen. Aus diesem Grunde ist es ratsam, nicht erst bei dunkleren Auszügen als Tafel VI, sondern schon bei denen, die man zu Tafel VI passend erachtet, eine Verdünnung des betreffenden Harns vor der Probe mit Wasser vorzunehmen.

Darauf zu achten ist ferner, dass die Chloroformauszüge stets klar erhalten werden, da dies Bedingung für einen Vergleich derselben mit der Tabelle ist. In der Regel werden sie schön klar und zum Vergleich geeignet sein, wenn die Bestimmung in der angegebenen Weise ausgeführt ist. Sollte jedoch das Chloroform bei einer Probe sich nach der Ausschüttelung als trübe, undurchsichtige Masse absetzen, so ist entweder der Zusatz der Bleizuckerlösung zu gering oder zu stark für den betreffenden Harn, oder aber derselbe enthält Mengen von Eiweiss, die durch die Fällung mit Bleizucker und durch die Filtration nicht entfernbar sind.

Um das Eiweiss aus dem Harn zu entfernen, habe ich denselben nach der Fällung mit Bleizuckerlösung einige Minuten gekocht und dann durch ein feines Filter filtriert. Wenn auch diese Massnahme nicht vollständig zum Erfolg führte, habe ich den Harn nach der Filtration mit einer ziemlich grossen Menge Chloroform kräftig geschüttelt und stehen lassen. Beim Abscheiden riss das Chloroform das Eiweiss und vielleicht auch andere die Trübung verursachende Bestandteile mit zu Boden. Den sich über dem Chloroform absetzenden Harn habe ich dann abgegossen, sorgfältig filtriert und zur Untersuchung auf Indikan verwendet.

Auf dieselbe Weise habe ich auch Haemoglobin, das ebenfalls störend wirkt, aus dem Harn entfernt.

Mit Hilfe der Farbtabelle habe ich in der angegebenen Weise eine Anzahl Harne sowohl gesunder, als auch mit Krankheiten behafteter Pferde auf den Indikangehalt untersucht. Es stellte sich dabei heraus, dass die Methode für klinische Zwecke gut geeignet ist, dass sie einerseits in sehr kurzer Zeit eine Bestimmung gestattet, andererseits aber Resultate erzielt, die, was Genauigkeit betrifft, für den Kliniker vollkommen ausreichend sind.

Die einmalige Ausschüttelung, die theoretisch betrachtet unter Umständen eine ziemliche Fehlerquelle werden kann, lieferte bei mehrfachen Untersuchungen derselben Harne stets die gleichen Ergebnisse. Hinzu kommt noch, dass man durch Übung in die Lage versetzt wird, auch den Gehalt der Harne genau angeben zu können, deren Chloroformauszüge beim Vergleich nicht ganz mit der Farbe einer Tafel der Skala übereinstimmen. Man wird z. B. feststellen können, ob ein Chloroformauszug, dessen Farbe zwischen Tafel III und IV liegt, mehr zu III oder zu IV passt, oder ob die Abweichung von beiden gleich weit entfernt ist. Auf ungefähr 25 mg wird man auf diese Weise den Indikangehalt der Harne ermitteln können. Im übrigen spielt eine Differenz von 50 mg bei stark indikanhaltigen Harnen für den Kliniker gar keine Rolle.

Die Untersuchungen, die ich angestellt habe, hatten den Zweck, festzustellen, zwischen welchen Grenzen beim gesunden Pferde der Indikangehalt des Harns schwankt und welche Umstände diese Schwankungen bedingen Dann aber sollte ermittelt werden, wie hoch bei den verschiedenen Erkrankungen des Pferdes der Indikangehalt des Harns ist.

Der Indikangehalt des Harns beim gesunden Pferde.

Wie schon aus den Resultaten hervorgeht, welche, wie weiter vorn mitgeteilt, die titrimetrische Untersuchung der Harne von 12 verschiedenen gesunden Pferden ergeben hat, sind grosse Unterschiede zwischen dem Indikangehalt der Harne gesunder Pferde zu konstatieren. Allerdings ist auch das spezifische Gewicht der Harne sehr verschieden gross.

Am meisten Indikan, 310 mg im Liter war in dem Harne vorhanden, der auch das höchste spezifische Gewicht 1052 der untersuchten Harne hatte, am wenigsten 45 mg im Liter war in dem enthalten, der das niedrigste spezifische Gewicht 1005 besass. Bei solchem Unterschied des spezifischen Gewichts ist die Verschiedenheit des Gehalts an Indigo bei den beiden Harnen nicht verwunderlich.

Das spezifische Gewicht ist aber beim gesunden Pferde trotzdem nicht der ausschliessliche Faktor, der die Höhe des Indikangehalts des Harns bedingt. Unter den 12 Harnen befanden sich einige, die bei niedrigerem spezifischen Gewicht einen bedeutend höheren Indikangehalt aufwiesen, als verschiedene andere Harne mit höherem spezifischen Gewicht. So hatte ein Harn (V) vom spezifischen Gewicht 1043 260 mg Indigo im Liter, ein anderer (VI) von spezifischem Gewicht 1044 nur 150 mg in derselben Menge.

Den verhältnismässig höchsten Gehalt hatte ein dreijähriger Hengst, dessen kolorimetrisch untersuchter Harn häufiger beim spezifischen Gewicht 1034 300 mg Indigo im Liter aufwies. Harne desselben von höherem spezifischen Gewicht als 1034 hatten noch mehr als 300 mg im Liter.

Als Erklärung für den sehr hohen Indikangehalt des Harns von dem Hengste diente mir der Umstand, dass das Pferd ein ungemein guter Fresser war. Es begnügte sich nicht nur mit dem ihm gereichten Futter, das aus Hafer, Häcksel, Kleie und Heu bestand, sondern frass andauernd noch von der Streu und häufig sogar von seinem eigenen Kot.

Überhaupt fand ich in der Regel, dass Pferde, die sehr viel frassen, verhältnismässig mehr Indikan im Harn hatten, als schlechte Fresser. Ausnahmen gab es auch hiervon. Man muss annehmen, dass bei diesen der hohe Indikangehalt des Harns sich dadurch erklärt, dass sich die Eiweisszersetzung im Darm lebhafter abspielt, als bei anderen Pferden.

Inwieweit die Art und die Zusammensetzung des verabreichten Futters Einfluss auf die Indikanausscheidung beim gesunden Pferde hat, vermag ich nicht zu entscheiden. Hierüber können nur Fütterungsversuche, die bei einer Anzahl gesunder Pferde gleichzeitig vorgenommen werden, Aufklärung schaffen. Für den gesunden Menschen fanden Ortweiler und Fr. Müller (8), dass reichliche Fleischnahrung zu bedeutender Vermehrung, ausschliessliche Nahrung von Pflanzeneiweiss, sowie stickstoff- und eiweissarme Kost zu erheblicher Verminderung bezw. zum Verschwinden der Indikanausscheidung führen.

Jedenfalls ist als sicher anzunehmen, dass die Menge des im Darmkanal vorhandenen eiweisshaltigen Materials, sowie auch der Grad der Fäulnis die wesentlichsten Faktoren für die Grösse der Indolbildung sind. Für die Grösse der Indikanausscheidung kommt aber als bedeutender Faktor die Resorption des gebildeten Indols hinzu. Ist dieselbe nicht behindert, dann muss eine beträchtliche Indolbildung auch eine beträchtliche Indikanausscheidung zur Folge haben.

Eine Verringerung bezw. ein Verschwinden der Indikanausscheidung beim gesunden Pferde wird also dann eintreten, wenn entweder die Eiweissfäulnis im Darm gestört bezw. unmöglich ist oder die Resorption des entstandenen Indols mehr oder weniger verhindert wird, oder wenn beide Momente gleichzeitig wirken.

Der Eiweisszerfall, der auf der Wirkung von Mikroorganismen beruht und damit die Indolbildung kann unterdrückt werden durch Desinfektion des Darms. Die Resorption kann geschädigt werden durch schnelle Fortbewegung des Darminhalts, welch letzterer Umstand vielleicht auch gleichzeitig eine Verringerung der Indolbildung im Darm herbeiführt.

Voraussetzung für alles Gesagte ist natürlich, dass der Darm bezw. der Inhalt desselben die alleinige Quelle ist, die das Indikan im Harn liefert.

Nach Baumann (18) „werden ausschliesslich im Darm und nur durch die Fäulnisprozesse in demselben unter normalen Verhältnissen diejenigen Stoffe gebildet, welche mit Schwefelsäure gepaart im Harn ausgeschieden werden". Baumann hat denn auch bei Hunden, deren Darmkanal durch grössere Gaben Calomel entleert wurden, das Indikan vollständig aus dem Harn verschwinden sehen Fr. Müller (8) hat durch Versuche ebenfalls nachgewiesen, dass bei gesunden Tieren ausserhalb des Darms keine Indolbildung stattfindet.

Wenn also beim Pferde der Darminhalt die alleinige Quelle des Indikans darstellt, dann müssten einerseits Abführmittel, die eine schnelle Fortbewegung der Futtermassen bewirken, andererseits Desinfektionsmittel, wenn sie imstande sind die Eiweissfäulnis zu unterdrücken, eine Verringerung der Indikanausscheidung zur Folge haben.

Einfluss von Arzneimitteln auf die Indikanausscheidung.

Den Einfluss der verschiedensten Abführmittel auf die Indikanausscheidung hatte ich in vielen Fällen zu beobachten Gelegenheit. Allerdings waren es keine gesunden Pferde, die mit Abführmitteln behandelt wurden. Man wird aber ebenso gut wie bei diesen, auch bei kranken Tieren die Wirkung der Mittel verfolgen können.

I. Fall.

Ein brauner Wallach wurde in die Klinik eingestellt, weil er trotz genügender Futteraufnahme immer magerer wurde. Temperatur niemals über 37,9°, Futteraufnahme gut, Kotabsatz normal, Kot sauer, stinkend, mangelhaft gekaut, enthielt Ascariden-, Strongyliden- und Oxyureneier in grosser Zahl. Diagnose: Scharfkantiges Gebiss, Helminthiasis, chronischer Darmkatarrh.

Am 11. Dezember: Kot normale Konsistenz. Harn mittags spezif. Gewicht 1039 cr. 1000 mg Indigo im Liter.

Am 12. Dezember: Morgens 6 Uhr wurde in Form einer Pille verabreicht: Acid. arsenicos. 2,0, Aloës pulv. 25,0. Kot normal geballt.
Harn mittags spezif. Gewicht 1042 cr. 1000 mg Indigo im Liter;
nachm. 4 Uhr spezif. Gew. 1044 cr. 1000 mg Indigo im Liter.

Am 13. Dezember: Kot mittags zum ersten Male dünnbreiig, im Laufe des Nachmittags flüssig und häufig abgesetzt.
Harn morgens 7 Uhr spezif. Gewicht 1043 cr. 1000 mg Indigo im Liter;

mittags spezif. Gewicht 1043 cr. 1000 mg Indigo im Liter;

nachmittags 5 Uhr spezif. Gewicht 1044 cr. 1000 mg Indigo im Liter.

Am 14. Dezember: Kot morgens flüssig, nachmittags breiig.

Harn mittags spezif. Gewicht 1039 50 mg Indigo im Liter.

Am 15. Dezember: Kot morgens locker geballt.

Harn morgens 10 Uhr spezif. Gewicht 1040 400 mg Indigo im Liter.

Am 17. Dezember: Harn mittags spezif. Gewicht 1033 400 mg Indigo im Liter.

II. Fall.

Ein anderer brauner Wallach, der eingestellt war, weil er sich müde und träge bei der Arbeit zeigte, bot ebenfalls das Bild eines chronischen Darmkatarrhs.

Harn enthielt 600 mg Indigo im Liter spezif. Gewicht 1042. Behandlung: In Form einer Pille Aloës pulv. 30,0, Natr. sulfuric. 200,0.

Nachdem einige Zeit Durchfall bestand, hatte der Harn 50 mg Indigo im Liter bei spezif. Gewicht 1033.

Als der Kot wieder festere Konsistenz bekam, waren 200 mg Indigo im Liter Harn vom spezif. Gewicht 1028 enthalten.

III. Fall.

Ein Fuchswallach war eingestellt wegen Auftretens von Anschwellungen auf dem Rücken, unterm Bauch und an den Gliedmassen. Diagnose: Morbus maculosus. Der Harn enthielt zu Anfang im Liter 200 mg bei spezif. Gewicht 1019. Nachdem das Pferd mehrere Wochen sehr schlecht gefressen, intravenös mit Collargol, per os mit Calomel, Dermatol, Liquor Kal. arsenicos. behandelt, und der Darmkanal

fast vollständig leer war, enthielt der Harn nur noch Spuren von Indikan bei einem spezif. Gewicht 1023.

Ich könnte noch viele ähnliche Fälle anführen. Bei allen zeigte sich, dass nach teilweiser Entleerung des Darms durch Abführmittel oder durch schnelle Fortbewegung der Inhaltsmassen, der Indikangehalt des Harns sich stark verminderte.

Um weiterhin den Einfluss von Desinfektionsmitteln auf die Indikanausscheidung zu prüfen, habe ich Versuche mit therapeutischen Dosen von *Calomel*, *Creolin* und *Borsäure* bei einem dreijährigen Hengst angestellt.

Das Pferd wurde während der Dauer des Versuchs stets gleichmässig gefüttert, frass ausserdem noch viel Stroh und setzte immer gut geballten Kot ab. Der Harn wurde in einem Glasgefäss aufgefangen, welches mittels Gurten vor der Schlauchöffnung aufgehängt war.

Am 25. November mittags bekam das Pferd 8,0 gr Calomel mit 30,0 gr gepulverter Tierkohle.

Die Kohle, welche unverändert im Kot ausgeschieden wird, wurde gegeben zwecks Ermittelung des Zeitraumes, den das Mittel zum Passieren des Körpers nötig hat.

Am 27. November mittags hatte der Kot eine etwas dunklere Färbung als tags zuvor, mikroskopisch waren Kohlepartikelchen in demselben nachweisbar. Der im Laufe des 28. abgesetzte Kot enthielt ebenfalls Kohlepartikelchen. Erst am 29. mittags waren keine solchen mehr auffindbar.

Die Harne, die in der Zeit vom 25.—30. November aufgefangen wurden, hatten alle ein sehr hohes spezif. Gewicht. Sie wurden deshalb alle vor der Untersuchung, um sie besser zum Vergleich mit einander geeignet zu machen mit destilliertem Wasser auf das spezif. Gewicht 1034 verdünnt. Um die

Möglichkeit zu haben, die zu den verschiedenen Harnen gehörigen, blauen Chloroformauszüge nicht nur mit der Farbtafel, sondern auch unter sich vergleichen zu können, wurden alle Harne zu gleicher Zeit untersucht. Wenn eine vollständige Übereinstimmung eines Auszugs mit einer der sechs Farben der Tabelle nicht bestand, dann habe ich die Zwischenstufe, der er nach meiner Ansicht entsprach, angegeben.

Auf diese Weise fand ich für die Harne folgende Indigowerte:

Harn I abgesetzt 25. November spezifisches Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn II abgesetzt 26. Nov. vorm. 10 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn III abgesetzt 26. Nov. mittags 12 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn IV abgesetzt 26. Nov. abends 10 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn V abgesetzt 27. Nov. morg. 8 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn VI abgesetzt 27. Nov. nachm. 4 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn VII abgesetzt 27. Nov. abends 10 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn VIII abgesetzt 28. Nov. morg. 11 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 300 mg im Liter.
Harn IX abgesetzt 28. Nov. nachm. 3 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn X abgesetzt 28. Nov. abends 10 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.
Harn XI abgesetzt 29. Nov. morg. 10 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 300 mg im Liter.
Harn XII abgesetzt 29. Nov. nachm. 4 Uhr spez. Gewicht 1034 enthielt 300 mg im Liter.
Harn XIII abgesetzt 30. Nov. mittags spez. Gewicht 1034 enthielt 250 mg im Liter.

Am 30. November abends, am 1., 2. und 3. Dez. morgens und abends bekam das Pferd je 25,0 gr Creolin, insgesamt also 175,0 gr als Pille verabreicht.

Die Fütterung blieb dieselbe, Kotabsatz und Beschaffenheit des Kotes veränderten sich während dieser Zeit auch nicht. Die Harne vom 30. November bis 7. Dezember hatten teilweise beim Absatz ein spezif. Gewicht unter 1034. Diejenigen, die darüber hatten, wurden auf 1034 verdünnt. Sie enthielten im Liter:

Harn I 30. Nov. abends 6 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
300 mg Indigo.

Harn II 1. Dez. vorm. 9 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
150 mg Indigo.

Harn III 1. Dez. mittags abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
175 mg Indigo.

Harn IV 1. Dez. nachm. 3 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
175 mg Indigo.

Harn V 1. Dez. abends 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
150 mg Indigo.

Harn VI 2. Dez. morg. 9 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1027
200 mg Indigo.

Harn VII 2. Dez. mittags abgesetzt bei spez. Gewicht 1030
175 mg Indigo.

Harn VIII 2. Dez. nachm. 5 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1033
200 mg Indigo.

Harn IX 2. Dez. abends 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
250 mg Indigo.

Harn X. 3. Dez. morg. 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
150 mg Indigo.

Harn XI 3. Dez. mittags abgesetzt bei spez. Gewicht 1031
200 mg Indigo.

Harn XII 3. Dez. nachm. 4 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1030
250 mg Indigo.

Harn XIII 3. Dez. abds. 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1032
250 mg Indigo.

Harn XIV 4. Dez. morg. 9 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1029
225 mg Indigo.

Harn XV 4. Dez. nachm. 6 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1028
225 mg Indigo.

Harn XVI 5. Dez. morg. 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
300 mg Indigo.

Harn XVII 5. Dez. abds. 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034
275 mg Indigo.

Harn XVIII 6. Dez. morg. 9 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1020
200 mg Indigo.

Harn XIX 6. Dez. abds. 10 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1034 250 mg Indigo.

Harn XX 7. Dez. morg. 8 Uhr abgesetzt bei spez. Gewicht 1027 250 mg Indigo.

Am 8. Dezember mittags erhielt der Hengst zum ersten Male 25,0 gr Borsäure als Pille. Am Abend desselben Tages, am 9. und 10. Dezember morgens und abends und am 11. Dezember morgens erhielt er dasselbe, zusammen also 175,0 gr Borsäure. Die Futteraufnahme war während dieser Zeit, obschon sie als genügend bezeichnet werden konnte, nicht so gut, wie vorher, da der Hengst zu Demonstrationszwecken mit Speichel eines an Stomatitis pustulosa contagiosa erkrankten Pferdes infiziert worden war. Der Kot war normal. Die vom 7. bis 14. Dezember aufgefangenen Harne wurden nicht mit Wasser verdünnt, da das spezifische Gewicht bei keinem über 1040 war. Sie enthielten:

Harn I 7. Dez. mittags aufgefangen, spez. Gewicht 1022 150 mg Indigo im Liter.

Harn II 8. Dez. mittags aufgefangen, spez. Gewicht 1030 225 mg Indigo im Liter.

Harn III 8. Dez. abends 9 Uhr aufgefangen, spez Gewicht 1026 200 mg Indigo im Liter.

Harn IV 9. Dez. morg. 8 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1024 175 mg Indigo im Liter.

Harn V 9. Dez. abends 6 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1026 225 mg Indigo im Liter.

Harn VI 10. Dez. morg. 8 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1036 250 mg Indigo im Liter.

Harn VII 10. Dez. nachm. 4 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1040 225 mg Indigo im Liter.

Harn VIII 10. Dez. abds. 9 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1034 250 mg Indigo im Liter.

Harn IX 11. Dez. morg. 9 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1033 200 mg Indigo im Liter.

Harn X 11. Dez. nachm. 5 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1038 175 mg Indigo im Liter.

Harn XI 12. Dez. morg. 9 Uhr aufgefangen, spez. Gewicht 1032 200 mg Indigo im Liter.

Harn XII 12. Dez. mittags aufgefangen, spez. Gewicht 1036
200 mg Indigo im Liter.
Harn XIII 12. Dez. nachm. 4 Uhr aufgefangen, spez. Gew. 1035
200 mg Indigo im Liter.
Harn XIV 13. Dez. morg. 10 Uhr aufgefangen, spez. Gew. 1033
200 mg Indigo im Liter.
Harn XV 13. Dez. nachm. 3 Uhr aufgefangen, spez. Gew. 1037
250 mg Indigo im Liter.
Harn XVI 13. Dez. abends 10 Uhr aufgefangen, spez. Gew. 1035
175 mg Indigo im Liter.
Harn XVII 14. Dez. morg. 7 Uhr aufgefangen, spez. Gew. 1030
150 mg Indigo im Liter.
Harn XVIII 14. Dez. morg. 11 Uhr aufgefangen, spez. Gew. 1031
175 mg Indigo im Liter.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass keins der drei gebrauchten Desinfektionsmittel in der angewandten Form und Menge im vorliegenden Falle zu einer Verminderung der Indikanausscheidung geführt hat, also auch den Darminhalt nicht derartig desinfiziert haben kann, dass die Eiweissfäulnis bezw. die Indolbildung verhindert oder auch nur wesentlich verringert wurde.

Die in jedem Falle beim Pferde mit Sicherheit eintretende Verminderung des Indikangehalts des Harns bei schneller Fortbewegung des Darminhalts durch Abführmittel bezw. bei Entleerung des Darms durch dieselben, spricht dafür, dass auch beim Pferde der Darm in der Regel die Quelle ist, aus der allein das Indikan des Harns stammt.

Indikangehalt des Harns bei Krankheiten des Pferdes.

Die pathologischen Zustände, die beim Menschen Einfluss auf die Indikanausscheidung haben, sind von Jaffé, Ortweiler und vielen anderen Autoren (4, 8, 17) mitgeteilt worden. Nach den Untersuchungen derselben tritt Vermehrung der Indikanausscheidung im

Harn auf bei Ileus, tuberkulöser Peritonitis, akut eitriger Peritonitis, Darmtuberkulose, chron. Dünndarmkatarrh, Typhus abdom. und putriden Eiterungen der Pleurahöhle; häufig auch bei Ulcus ventriculi, Perityphlitis, Magenerweiterung, Leber- und Magencarcinom und bei anderen Krankheiten mit Verdauungsstörungen.

Versuche am Hunde haben ergeben, dass Unterbindung des Dünndarms bedeutend vermehrte Indikanausscheidung zur Folge hat, Unterbindung des Dickdarms dagegen nicht.

Die Krankheitsfälle beim Pferde, bei denen ich Gelegenheit hatte, Harne der erkrankten Tiere auf ihren Indikangehalt zu untersuchen, waren nicht so mannigfaltiger Art, wie die vom Menschen mitgeteilten.

Insbesondere standen mir leider keine Patienten mit Lungengangrän oder Peritonitis zu Gebote, welche Fälle gerade deswegen von Interesse sind, weil sie, wenn bei ihnen sich regelmässig wie beim Menschen vermehrte Indikanausscheidung zeigt, den Beweis erbringen, dass auch beim Pferde nicht nur vermehrte Indolbildung im Darm, sondern auch Erkrankungen ausserhalb desselben, die mit beträchtlichem Zerfall von Körpereiweiss verbunden sind, eine Vermehrung der Indikanausscheidung herbeiführen können. Grosse Bedeutung wird allerdings bei diesen Krankheiten die Indikanbestimmung für den Kliniker nicht haben können, da erstens die Diagnose in vielen Fällen unschwer zu stellen ist, zweitens aber der Grad der Erkrankung oder des Eiweisszerfalls nicht ohne weiteres aus der Grösse der ausgeschiedenen Indikanmenge bestimmt werden kann, da nicht festzustellen ist, wieviel Indikan von dem Eiweisszerfall der erkrankten Stelle herrührt und wieviel aus dem Darm stammt.

Meine Untersuchungen erstreckten sich in erster Linie auf das grosse und vielseitige Material von Kolikfällen und auf Erkrankungen des Verdauungsapparates überhaupt, in zweiter Linie erst auf die in einer medizinischen Pferdeklinik sich bietenden übrigen Krankheiten.

Um die Indikanbestimmung nicht nur für die Stellung der Diagnose verwerten zu können, sondern um durch dieselbe auch Aufschlüsse über den weiteren Verlauf einer Krankheit zu bekommen, habe ich in den meisten Fällen nicht nur beim Beginne einer Erkrankung den Harn auf Indikan untersucht, sondern auch während derselben wiederholt Bestimmungen ausgeführt. Ich fand folgende Indigowerte bei den von mir untersuchten Krankheitsfällen:

Wie im vorigen Abschnitt Fall 1 und 2 zeigen, ist beim chronischen Darmkatarrh der Indikangehalt um das 3—5fache vermehrt gefunden, nach Eintritt von Durchfall infolge Abführungsmittelwirkung stark unter die Norm gesunken, nach Aufhören des Durchfalls wieder angestiegen.

Bei Kolik, deren Ursache Überfütterung bezw. Magenüberfüllung war, fand ich bei einer braunen Stute, die als Futter Bohnen-, Roggen- und Hafergarben erhalten hatte 700 mg Indigo im Liter bei einem spezifischen Gewicht des Harns von 1047. Bei einem braunen Wallach, der ebenfalls an Überfütterungskolik litt, wies der Harn 500 mg Indigo auf beim spezifischen Gewicht 1032.

Einige Fälle von Blinddarmkolik will ich zur Erläuterung genauer mitteilen: Eine 18 Jahre alte schwarzbraune Stute leichteren Schlages wegen Kolikerscheinungen am 17. November in die Klinik eingestellt, hatte eine per rectum fühlbare Anschoppung im Blinddarm und leeren Perkussionsschall in der Blinddarmgegend. Unruheerscheinungen waren gering,

zeitweilig garnicht vorhanden. Der am 17. November aufgefangene Harn hatte ein spezifisches Gewicht 1032 und enthielt 1200 mg Indigo im Liter.

Am 17. November erhielt das Pferd 8,0 gr Calomel und 30,0 gr Aloë.

Am 18. November vormittags wurde etwas Kot abgesetzt, sonst Befund wie tags zuvor. Der am Nachmittag gelassene Harn vom spezif. Gewicht 1036 enthielt 600 mg Indigo.

Am 19. November vormittags wurde wiederholt in kleineren Mengen breiiger Kot abgesetzt. Eine Anschoppung im Blinddarm war per rectum nicht mehr zu fühlen. Nachmittags enthielt der Harn vom spezifischen Gewicht 1033 500 mg Indigo.

Am 20. November war der Kot noch breiig. Der Harn vom spezifischen Gewicht 1031 enthielt 600 mg.

Am 21. November waren im Harn vom spezif. Gewicht 1038 500 mg enthalten.

Am 22. November wurde der Patient vom Besitzer abgeholt, obwohl auf Grund des Indikanbefundes gesagt wurde, dass wahrscheinlich die Verstopfung im Blinddarm noch nicht ganz behoben sei. Am 29. November wurde er wieder wegen Kolik zur Behandlung als Ambulant vorgeführt. Jetzt war wieder eine Anschoppung im Blinddarm durch Perkussion und rectale Untersuchung festzustellen. Der Harn vom spezifischen Gewicht 1029 enthielt 800 mg Indigo im Liter.

Ein anderer Krankheitsfall war ähnlich: Ein Rappwallach russischer Abkunft war schon sechs Tage lang wegen Blinddarmkolik, die durch Untersuchung per rectum und Perkussion diagnostiziert war, mit den verschiedensten Abführmitteln behan-

delt. Seit einigen Tagen setzte er flüssigen Kot in ziemlicher Menge ab und zeigte sich ganz ruhig. Weder durch Perkussion noch durch rektale Untersuchung war noch eine Anschoppung im Blinddarm festzustellen. Trotzdem enthielt der Harn bei einem spezifischen Gewicht 1022 600 mg Indigo im Liter. Auch bei diesem Patienten traten nach einiger Zeit, während welcher er mehr Futter, besonders Hafer zu sich genommen, Unruheerscheinungen wieder auf, die, wie die Perkussion und die Untersuchung per rectum ergab, wiederum durch Blinddarmverstopfung bedingt waren.

Ein dritter Fall ist folgender: Von einem Schimmelwallach mit Blinddarmanschoppung konnte erst am neunten Tage nach der Einstellung Harn aufgefangen werden, da es bei dem Patienten unmöglich war, vor der Schlauchöffnung ein Gefäss aufzuhängen. Das Pferd war während der Zeit andauernd energisch behandelt worden mit Aloë, Natr. sulfuric, Arecolin, Eserin, Ricinusöl etc. Die Futteraufnahme war fast vollständig sistiert. Kot war schon Tage hindurch in flüssiger Form und erheblicher Menge abgesetzt worden. Der Harn enthielt beim spezifischen Gewicht 1033 200 mg Indigo. Eine Anschoppung im Blinddarm war per rectum fühlbar. Am elften Tage nach der Einstellung ist das Pferd gestorben. Die Sektion bestätigte, dass der Blinddarm prall gefüllt war. Die übrigen Darmabschnitte waren vollständig leer. Ein Gehalt des Harns vom spezifischen Gewicht 1033 von 200 mg Indigo ist in diesem Falle, wo seit mehreren Tagen starker Durchfall bestand, noch als ziemlich erhebliche Vermehrung aufzufassen, wenn man bedenkt, dass schon in der Regel der Indikangehalt weit unter die Norm sinkt, wenn nur kurze Zeit geringgradiger Durchfall besteht. Er wies also auch darauf hin, dass trotz des

starken Durchfalls der Darm nicht ganz leer sein konnte bezw. noch an einer Stelle mit Futtermassen angefüllt war.

Auch bei den sämtlichen anderen von mir untersuchten Harnen von Pferden mit Blinddarmverstopfung war der Indikangehalt stets um das 3—5 fache vermehrt. Er sank aber unter die Norm, wenn infolge der verabreichten Abführmittel die Verstopfung vollständig behoben war. Sobald der Durchfall dann in diesen Fällen nachgelassen hatte, stieg er wieder bis zur Norm empor.

Bei Anschoppung in der magenähnlichen Erweiterung fand ich den Indikangehalt des Harns bei einer Rappstute wie folgt: Dieselbe war schon drei Tage lang mit den verschiedensten Abführmitteln behandelt, ehe sie Kot absetzte. Am ersten Tage der Behandlung hatte der Harn ein spezifisches Gewicht von 1035 und 350 mg Indigo im Liter. Am zweiten Tage stieg der Gehalt auf 400 mg bei einem spezifischen Gewicht 1022 und am dritten Tage auf 500 mg bei einem spezifischen Gewicht 1026. Nachdem am Nachmittage des dritten Tages Kot abgesetzt war und am vierten Tage der Kot dünnbreiig geworden war, enthielt der Harn, der am vierten Tage mittags aufgefangen wurde, nur 50 mg Indigo bei einem spezifischen Gewicht 1038. Am sechsten Tage hatte der Kot wieder normale Konsistenz, der Patient war geheilt. Der Harn hatte jetzt im Liter 100 mg Indigo beim spezifischen Gewicht 1033.

Bei einem braunen Wallach, bei dem eine Anschoppung im Grimmdarm festgestellt war, hatte der Harn, bevor Kot abgesetzt war, bei einem spezifischen Gewicht 1040 einen Gehalt von 500 mg Indigo im Liter. Einige Zeit nach Eintritt des durch Abführmittel herbeigeführten Durchfalls waren nur 50 mg im Liter enthalten beim spezifischen Gewicht 1028.

Nach Aufhören des Durchfalls befanden sich beim spezifischen Gewicht 1024 125 mg Indigo im Liter.

Im Gegensatz zu den drei Fällen von chronischer Blinddarmkolik ist mir kein Fall von Kolik infolge Anschoppung im Grimmdarm vorgekommen, bei dem nicht der Indikangehalt unter die Norm gesunken wäre, sobald der Kot häufig und reichlich infolge der Wirkung der Abführmittel abgesetzt war.

In zwei Fällen von rheumatischer Kolik, in denen ich Harn der Patienten untersuchte, war der Indikangehalt normal.

Bei einem Patienten mit zentraler Mastdarm- und Blasenlähmung, bei dem sich die Kotmassen im Mastdarm anstauten, bis sie manuell entleert wurden, fand ich ebenfalls keine Vermehrung des Indikans vor.

Sehr schwankend war die Indikanausscheidung bei an Brustseuche erkrankten Patienten, indessen waren grosse Abweichungen von der Norm nicht zu konstatieren.

Eine Vermehrung des Harnindikans habe ich nicht gefunden bei Patienten mit Pleuritis, Druse, Morbus maculosus, Lumbago und Tuberkulose.

Wert der Indikanbestimmung beim Pferde für den Kliniker.

Es ist unmöglich, aus den untersuchten Krankheitsfällen ein definitives Urteil über den Wert der Indikanbestimmung abzuleiten. Hierzu müssen die Untersuchungen erst erweitert und auch noch auf Krankheitsfälle anderer Art, als die beschriebenen, ausgedehnt werden.

Die letzteren dürften aber genügen, um den Wert, den die Indikanbestimmung für verschiedene Krankheiten hat, vor Augen zu führen. Die Verschiedenheit der Indigowerte, die ich bei den unter-

suchten Fällen erhielt, lassen in jedem Falle von Kolik sowohl, als auch bei Pferden mit Erkrankungen des Darmkanals überhaupt es angezeigt erscheinen, eine Untersuchung des Harns auf Indikan vorzunehmen.

So wird man beim chronischen Darmkatarrh aus der Höhe des Indikangehalts des Harns in jedem einzelnen Falle den Grad der Fäulnis im Darm erkennen können. Bei Koliken infolge Magenüberladung oder infolge Anschoppung im Darm wird man aus dem Indikangehalt einen Schluss ziehen können, welchen Grad die Erkrankung erreicht hat, ob und wann sie behoben ist.

Von ganz besonderer Bedeutung ist der Indikanbefund bei Blinddarmkoliken, bei denen in jedem Falle eine bedeutende Vermehrung des Indikans konstatiert werden kann. Eine Blinddarmkolik wird nur dann zutreffend beurteilt werden können, wenn der Indikangehalt des Harns berücksichtigt wird. Bekanntlich neigt keine Kolik in dem Masse zur Chronizität und zu Recidiven, wie die durch Blinddarmverstopfung verursachte. Durchaus nicht selten zeigen Patienten mit dieser Erkrankung tagelange kolikfreie Intervalle, und nicht allein die Kolikerscheinungen verschwinden, sondern es stellt sich auch wieder etwas Appetit ein und sogar durch die Untersuchung per rectum, die ja nur die Palpation des Blinddarmgrundes gestattet, ist eine Blinddarmverstopfung nicht mehr nachweisbar. Und doch ist eine solche im vorderen Teil des Blinddarmkörpers noch vorhanden. Sobald dann das Pferd zwei oder drei Tage hindurch wieder etwas Futter aufgenommen hat, ist auch der Rest des Blinddarms wieder angefüllt und die Kolik beginnt von Neuem.

Nur die Indikanbestimmung dürfte in Fällen der geschilderten Art vor der schadenbringenden An-

nahme einer vollständigen Heilung der Patienten bewahren. Diese ist — das Schwinden sämtlicher übrigen Kolikerscheinungen selbstverständlich vorausgesetzt — erst dann erwiesen, wenn der Indikangehalt des Harns ein normaler geworden ist.

Ein Punkt ist dabei aber noch zu berücksichtigen. Wie oben ausgeführt, sinkt der Indikangehalt auf etwa 50 mg, sobald ein Pferd Abführmittel bekommen und infolgedessen eine allgemeine Entleerung des Darms eingetreten ist. Bei Blinddarmverstopfung ereignet es sich nun gar nicht selten nach Verabreichung genügender Mengen Aloë und dergleichen, dass starker Durchfall eintritt, ohne dass die Blinddarmverstopfung selbst beseitigt ist. Der Indikangehalt des Harns sinkt dann aber auch nicht in dem Grade, wie es bei allgemeiner Entleerung des Darms beobachtet wird. Diese Tatsache ist von klinischer Bedeutung. Zeigt sich in solchen Fällen ein Gehalt von cr. 200 mg Indikan, so ist das als eine Vermehrung desselben um das 4—5fache zu betrachten und man darf annehmen, dass der Blinddarm noch nicht entleert ist.

Mag nun in vielen Fällen die Diagnose auch ohne Indikanbestimmung bei Koliken und Darmkrankheiten durch den übrigen Befund hinlänglich fixiert sein, die Untersuchung des Harns wird doch immer zur Sicherung der Diagnose beitragen und vielfach sogar einen besseren Überblick über den Krankheitsfall gewähren, als auf andere Weise ermittelte Symptome dies vermögen.

Zusammenfassung.

1. Die bisher in der Tierheilkunde gebräuchlichen Methoden zur Indikanbestimmung des Pferdeharns sind ungenau und, wenn von Ungeübten ange-

wandt, wertlos. Die für die Untersuchung des Menschenharns veröffentlichten Methoden sind teils zu umständlich, teils für die klinische Untersuchung des Pferdeharns nicht verwendbar.

2) *Mit Hilfe der von mir ausgearbeiteten Methode (siehe Seite 26) kann der Indikangehalt des Pferdeharns von jedem Praktiker ohne besondere Mühe mit einer für klinische Zwecke ausreichenden Genauigkeit ermittelt werden.*

3) *Der Durchschnittsgehalt des normalen Pferdeharns an Indigo beträgt 184 mg im Liter bei einem mittleren spezifischen Gewicht von 1034.*

4) *Abführmittel sind imstande die Indikanmenge des Harns beim Pferde beträchtlich zu vermindern, Desinfektionsmittel dagegen in therapeutischen Dosen vermögen dies nicht.*

5) *Vermehrung der Indikanausscheidung habe ich beobachtet:*

a. *bei chronischem Darmkatarrh;*

b. *bei Überfütterungs- und Anschoppungskoliken überhaupt;*

c. *besonders stark aber bei Blinddarmverstopfung.*

6. *Für eine exakte Beurteilung einer Blinddarm-Verstopfung ist die Indikanbestimmung nicht zu entbehren.*

7. *Bei allen Erkrankungen im Bereiche des Darms gibt bei Pferden die Untersuchung auf Indikan wertvolle Aufschlüsse über die im Darm sich abspielenden Zersetzungsprozesse.*

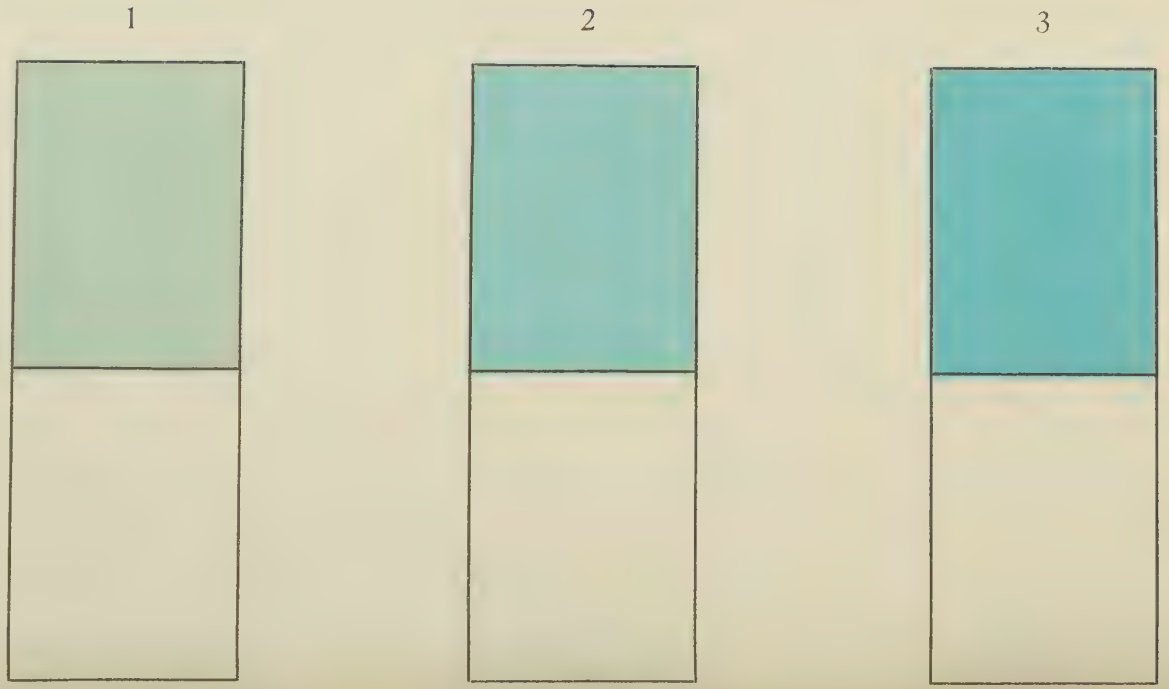
An dieser Stelle möchte ich noch Herrn Prof. Dr. Malkmus für die Bereitwilligkeit, mit der er mir sein Laboratorium und die klinischen Fälle zur Verfügung stellte, sowie für die Anleitungen und Ratschläge, die er mir gab, sowie auch Herrn Repetitor Dr. Zürn und Herrn Apotheker Dr. Behrens für die Unterstützung, die sie mir zu teil werden liessen, meinen herzlichsten Dank aussprechen.

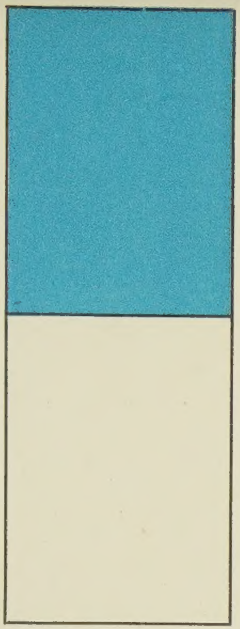
Literatur.

1. Neubauer & Vogel, Analyse des Harns.
2. Loebisch F. W., Anleitung zur Harnanalyse.
3. Salkowski & Leube, Lehre vom Harn.
4. Centralblatt f. d. med. Wissenschaft 1872. Seite 2 u. Virchow's Archiv Bd. 70 Seite 72.
5. Zeitschrift für phys. Chemie 3. 1879 u. Ber. d. chem. Gesellschaft 12, 1879 u. 13. 1880.
6. Pflüger's Archiv f. d. ges. Phys. III 1870.
7. Virchow's Archiv f. path. Anatomie 68.
8. Mitteilungen aus der med. Klinik zu Würzburg II 1886.
9. Wiener Klinische Wochenschrift 1890.
10. Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 18 1894 u. Bd. 19 1894.
11. Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 25.
12. Wiener Klin. Rundschau 1898.
13. Zeitschrift f. analyt. Chemie, 38. Jahrg.
14. Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 27.
15. Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 38.
16. Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 32.
17. Deutsche med. Wochenschrift 1902 Nr. 16.
18. Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 10 1886.

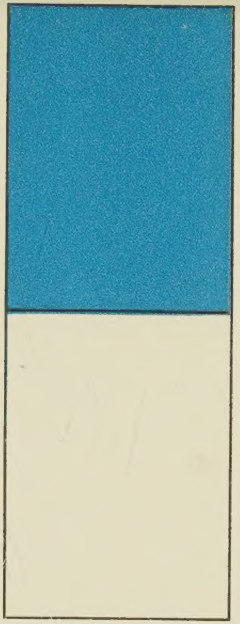
Lebenslauf.

Am 24. Januar 1881 wurde ich, Ernst, Wilhelm, Heinrich, Berthold Bauer zu Osterode am Harz als Sohn des Landwirts und Posthalters Ernst Bauer geboren. Ich besuchte die Vorschule und das Realgymnasium zu Osterode und erlangte Ostern 1900 das Zeugnis der Reife. Alsdann bezog ich die tierärztliche Hochschule zu Hannover, an welcher ich im Wintersemester 1901—02 die naturwissenschaftliche Prüfung bestand. Nachdem ich dann im Sommersemester 1902 an der tierärztlichen Hochschule zu Berlin studiert hatte, ging ich wieder nach Hannover zurück und erlangte dort im Februar 1904 die Approbation als Tierarzt. Nach erfolgter Approbation beschäftigte ich mich in der medizinischen Klinik der tierärztlichen Hochschule zu Hannover mit der Ausarbeitung meiner Dissertation.

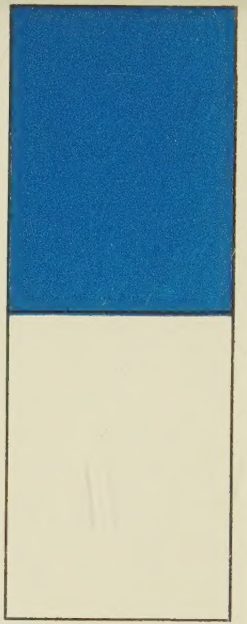

1
2
3
50 mg
100 mg
200 mg



300 mg



400 mg



500 mg